基于 LC-MS 的轻、重症急性胰腺炎差异的血清代谢组学研究

黄湘平[1]，吴玲[1]，谭超超[1△]，卢婉莹[2]

(1.湖南师范大学附属第一医院湖南省人民医院检验科,湖南 长沙 410002，2.华中科技大学同济医学院附属同济医院,湖北 武汉 430030）

[**基金项目**]本研究受湖南省科技厅自然基金(2020JJ8086);湖南省科技厅临床引导项目(2020SK50927);湖南省教育厅(19B352)资助。

[作者简介] 黄湘平（1993-），男，硕士，主要从事急性胰腺炎及胰腺癌的基础研究，E-mail:1416781558@qq.com

[通信作者] 谭超超(Tan Chaocchao,Corresponding author)博士，副主任技师，硕士生导师，主要从事胰腺疾病相关方面的研究，E-mail：tchchwolf@163.com

【摘要】目的：探讨轻症急性胰腺炎与重症急性胰腺炎差异代谢物，为急性胰腺炎轻重症转化的发病机制以及治疗提供新的思路。方法：收集湖南省人民医院2020 年 8 月—2021 年 3 月住院期间确诊急性胰腺炎的血清标本 68 例，根据 RAC 分级分为轻症急性胰腺炎（40 例）、重症急性胰腺炎（28 例），利用 LC-MS 代谢组学分析两组之间差异代谢物以及代谢通路。结果：经 PCA、PLS-DA 分析发现轻症急性胰腺炎与重症急性胰腺炎代谢轮廓具有显著性差异。结合 VIP>1、FC>1.5，且 P<0.05，在两组之间筛选出 50 种差异代谢物，6 条代谢通路，其中牛磺酸和亚牛磺酸代谢、萜类骨架生物合成为影响最大的两条代谢通路；结合 ROC 曲线分析，ROC>0.9 的差异代谢物有 8 种，分别为：2-苯基-1,3-丙二醇单氨基甲酸酯、苯海拉明 N-葡萄糖醛酸、rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡萄糖醛酸、六氟异丙醇、NNAL-N-葡萄糖醛酸、赤藓醇四硝酸酯、3-羟基丁酸、四氢脱氧皮质酮。其中在重症胰腺炎患者中表达升高的有：2-苯基-1,3-丙二醇单氨基甲酸酯 rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡萄糖醛酸、六氟异丙醇、赤藓醇四硝酸酯、3-羟基丁酸、四氢脱氧皮质酮，表达下调的有:苯海拉明 N-葡萄糖醛酸、NNAL-N-葡糖苷酸。**结论**：轻症急性胰腺炎与重症急性胰腺炎代谢物发生显著改变，其中 2-苯基-1,3-丙二醇单氨基甲酸酯、苯海拉明 N-葡萄糖醛酸、rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡萄糖醛酸、六氟异丙醇、NNAL-N-葡萄糖醛酸、赤藓醇四硝酸酯、3-羟基丁酸、四氢脱氧皮质酮可能为二者之间的潜在生物标志物。

【关键词】LC-MS；轻症急性胰腺炎；重症急性胰腺炎；代谢组学

Serum metabolomic study on the difference between mild and severe acute pancreatitis based on LC-MS

Huang Xiangping[1], Wu Ling[1], Tan Chaochao[1]□, Lu Wanying[2]

(1. Department of Laboratory Medicine, Hunan Provincial People's Hospital, The First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha 410002, Hunan, China; 2. Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei, China)

[Funded Projects] This research was supported by the Natural Foundation of Hunan Provincial Department of Science and Technology (2020JJ8086); the Clinical Guidance Project of Hunan Provincial Department of Science and Technology (2020SK50927); and the Hunan Provincial Department of Education (19B352).

[Author's brief introduction] Huang Xiangping (1993-), male, master, mainly engaged in the basic research of acute pancreatitis and pancreatic cancer, E-mail: 1416781558@qq.com

[Corresponding author] Dr. Tan Chaochao (Corresponding author), Deputy Chief Technician, Master Supervisor, mainly engaged in research on pancreatic diseases, E-mail: tchchwolf@163.com

【Abstract】Objective: To explore the differential metabolites of mild acute pancreatitis and severe acute pancreatitis, and to provide new ideas for the pathogenesis and treatment of acute pancreatitis transition from mild to severe. Methods: Collect 68 serum specimens of acute pancreatitis diagnosed during hospitalization from Hunan Provincial People's Hospital from August 2020 to March 2021. According to the RAC classification, they were divided into mild acute pancreatitis (40 cases) and severe acute pancreatitis (28 cases).), using LC-MS metabolomics to analyze the different metabolites and metabolic pathways between the two groups. Results: PCA and PLS-DA analysis showed that the metabolic profile of mild acute pancreatitis was significantly different from that of severe acute pancreatitis. Combining VIP>1, FC>1.5, and $P<0.05$, 50 different metabolites and 6

metabolic pathways were screened between the two groups. Among them, taurine and hypotaurine metabolism and terpenoid skeleton biosynthesis were the influence The two largest metabolic pathways; combined with ROC curve analysis, there are 8 different metabolites with ROC>0.9, namely: 2-phenyl-1,3-propanediol monocarbamate, diphenhydramine N-glucaldehyde Acid, rac-5,6-epoxy-retinoyl-β-D-glucuronic acid, hexafluoroisopropanol, NNAL-N-glucuronic acid, erythritol tetranitrate, 3-hydroxybutyric acid, Tetrahydrodeoxycorticosterone. Among them, the expression elevated in patients with severe pancreatitis are: 2-phenyl-1,3-propanediol monocarbamate rac-5,6-epoxy-retinoyl-β-D-glucuronic acid, six Fluoroisopropanol, erythritol tetranitrate, 3-hydroxybutyric acid, tetrahydrodeoxycorticosterone, the expression down-regulated are: diphenhydramine N-glucuronic acid, NNAL-N-glucuronide. Conclusion: The metabolites of mild acute pancreatitis and severe acute pancreatitis have changed significantly, including 2-phenyl-1,3-propanediol monocarbamate, diphenhydramine N-glucuronic acid, rac-5,6 -Epoxy-retinoyl- β -D-glucuronic acid, hexafluoroisopropanol, NNAL-N-glucuronic acid, erythritol tetranitrate, 3-hydroxybutyric acid, tetrahydrodeoxycorticosterone may be Potential biomarkers between the two.

[Keywords] LC-MS; mild acute pancreatitis; severe acute pancreatitis; metabolomics

急性胰腺炎（Acute pancreatitis，AP）是一种常见的急腹症，临床表现以持续性上腹部剧烈疼痛为典型症状，可伴有腹胀、恶心、呕吐等。近些年，急性胰腺炎的发病率逐年上升，每十万人中大约有 34 例[1]，引起急性胰腺炎的因素有很多，常见的因素主要为胆石症和饮酒，其它一些因素如：内镜逆行胰胆管造影（Endoscopic retrograde cholangiopancreatography，ERCP）、药物、高甘油三脂血症、感染、创伤等。目前急性胰腺炎的发病机制包括有胰蛋白酶原激活、Ca2+超载、内质网应激、线粒体功能障碍、自噬受损，其中胰蛋白酶原的激活被认为是急性胰腺炎的一个非常重要的致病机制，胰酶的异常激活能够消化胰腺及其周围器官，产生局部胰腺炎症反应，病程进一步进展可能导致多器官功能的衰竭[2]。根据 2012 年修订版的亚特兰大新分类，AP 可分为轻症急性胰腺炎（Mild acute

pancreatitis，MAP）、中度重症急性胰腺炎（Moderately Severe Acute Pancreatitis，MSAP）和重症急性胰腺炎（Severe acute pancreatitis，SAP）[3]。其中，轻症急性胰腺炎不伴有器官功能衰竭和局部或全身的并发症，通常在 2 周之内恢复，病死率极低；而重症急性胰腺炎常常伴有持续性的器官衰竭，通常病死率极高，可超过 30%[4]。大多数患者表现为轻度急性胰腺炎，具有自限性，通常在 1 周内痊愈。有数据表明，大约 15%的 AP 患者首次入院时出现了 MSAP 或 SAP[5]，伴有胰腺或胰周组织坏死或器官衰竭，或两者兼而有之，死亡率高达 20－40%[6]，对于此类可能进展为重症的患者，做到早期识别和诊断，采取及时有效的治疗措施，对于改善病人的预后以及降低病死率都有很大的意义。目前实验室的检查如 C 反应蛋白、尿素氮、血细胞比容与疾病的严重程度存在一定的相关性，但是准确性欠佳，临床上也提出的多种评分系统如：急性生理学和慢性健康状况评价 II（acute physiology and chronic health evaluation□，APACHE □）、急性胰腺炎严重程度床边指数评分来预测 SAP 的发生，也存在一定的不足[7]。代谢组学（metabolomics）是通过对参与疾病代谢的小分子物质进行研究，其价值从传统的寻找疾病诊断和预测的生物标志物到进一步进展为寻找异常的代谢通路。代谢组学能够对相对分子质量<1000 的内源性代谢物进行全面测量，它是了解生理和病理反应中已知的代谢途径和生物功能改变的一种有用方法[8]。本研究拟采用代谢组学筛选出轻、重症急性胰腺炎差异代谢物，寻找异常代谢通路，探索轻、重症急性胰腺炎的潜在生物标志物，为重症急性胰腺炎的早期诊断、治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 实验材料与仪器

甲醇（赛默飞世尔科技中国有限公司）；乙腈（赛默飞世尔科技中国国有限公司）；蒸馏水（屈成氏集团）；EP 管（湖州中锐精密科技有限公司）；液相色谱质谱联用仪（美国 Thermo scientific 公司）；液相质谱分析仪（美国 Bruker 公司）；G-560E 型漩涡振动器（美国 ThermoScientific 公司）；低温高速台式离心机 （广州吉迪仪器有限公司）；-80□超低温冰箱 （山东博科科学仪器有限公司）；医用冰箱（山东博科科学仪器有限公司）；MetaboAnalyst 5.0 Bruker 公司（美国）。

1.2 研究对象

本实验所采用的样本均来自湖南省人民医院 2020 年 8 月—2021 年 3 月住院期间确诊为轻症急性胰腺炎的血清标本 40 例，重症胰腺炎的血清标本共 28 例。急性胰腺炎的诊断标准：（1）上腹部持续性疼痛。（2）血清淀粉酶和（或）脂肪酶浓度至少高于正常上限值 3 倍。（3）腹部影像学检查结果显示符合急性胰腺炎影像学改变。上述 3 项标准中符合 2 项即可诊断为急性胰腺炎[7]。

轻症、重症急性胰腺炎纳入标准：（1）符合 RAC 分级中的轻症、重症急性胰腺炎的诊断标准；（2）无其它严重的代谢性和免疫性疾病。排除标准：患者患有风湿免疫性疾病、肿瘤、肝脏和肾脏疾病等能够导致胰腺炎的疾病均被排除在外。

1.3 标本采集与处理

1.3.1 标本采集

收集患者入院时疾病发作时采集的静脉血，离心取血清，所有患者均符合急性胰腺炎的诊断标准，并根据 RAC 分级将其分为 MAP、SAP。

1.3.2 标本处理

吸取 100μL 血清样本，加入 10μL 内标（0.3 mg/mL 的 L-2-氯苯丙氨酸，甲醇配置），涡旋震荡 10 s；加入 300μL 蛋白沉淀剂即甲醇-乙腈（2:1, v/v），涡旋震荡 1 min; 在冰水浴中超声提取 10-15min; 放于-20□冰箱中静置 30 min; 4□，13000 rpm 离心 15 min，取 200μL 的上清液,做 LC-MS 分析。

1.3.3 质控的制备

QC 用于评价进样前的仪器、色谱质谱系统和试验过程中系统的稳定性，确保得到的实验数据真实可靠；所有的 68 个样品各吸取 10ul 于 EP 管中，涡旋混匀 10s，分装成每管 100ul，共 6 管，其余步骤同样本处理。

1.4 HPLC-MS 分析

以 HPLC-MS 作为代谢物分离检测平台，研究 MAP 与 SAP 两组之间血清的代谢差异，在质谱正、负离子模式下收集数据；超高效液相色谱条件：AcclainmTMRSLC120-C18 色谱柱(100 mm×2.1 mm)， 柱温保持在 40 □，进样量 3μL。流动相 A 0.1% （体积分数）甲酸/水（含 2 mmol/L 甲酸铵），流动相 B 为 0.1%（体积分数）乙腈/水，梯度设置：2% B 持续 0～2 min，50% B 持续 2～12 min，90% B 持续 10～30 min，98% B 继续持续作用 30 ～60 min；流速

维持在 400 μl/ min；质谱条件为 ： 电喷雾离子源 (electrosprayion source，ESI±)，采用正负离子模式检测，使用高纯 N2 辅助喷雾电离与脱溶剂，流速为 1.2 L/min 质量扫描范围 20～1000 m/z，干燥气温度 200 □。

1.5 质控验证

为了检验仪器的稳定性和实验的重复性，对本次实验 6 个 QC 样本进行了的验证，验证结果提示 6 份 QC 样本的偏差均在 2SD 范围内，说明仪器的稳定性和实验的重复性均好，实验数据稳定可靠且能反应不同组别之间代谢组学上的差异。

1.6 数据处理

1.6.1 数据预处理

通过 Metaboscape 3.0 软件对原始数据进行峰提取、除噪、标准化、导出等预处理，再将数据上传至 HMDB 数据库进行匹配，最后得到代谢物的保留时间、质荷比、峰值等信息。

1.6.2 数据统计学分析

将通过预处理得到的数据，导入 MetaboAnalyst 5.0 进行分析，首先对数据进行归一化处理，使分析的数据呈现正态分布，以排除个体间差异和外界多重因素的影响，使各代谢物之间在数值上具有一定可比性；通过单变量分析，采用火山图（Volcano Plot）显示两组样本的差异性代谢物，通过 t 检验即 $p<0.05$ 和 FC ＞1.5 为标准筛选差异性代谢物；通过主成分分析（principal component analysis，PCA）来对数据进行概述和离群值检测；然后构建偏最小二乘判别分析（partial least squares-discriminant analysis，PLS-DA）模型来进行分类，并通过 K 折交互验证和 100 次置换检验对模型的进行评价，了解模型的可靠性；通过 PLS-DA 得到的变量权重值（Variable important in projection，VIP），以 VIP＞1.0 筛选潜在的差异性代谢物；通过聚类分析评价不同代谢物的相关性及聚类程度；最终将得到的差异代谢物进行代谢通路分析。

2 结果

2.1 患者临床资料分析结果

2.2 单变量分析

采用单变量统计学分析方法 t 检验与 FC（差异倍数，即在两组间代谢物相对含量差异的倍数）相结合的分析方法，以 $p<0.05$，FC＞1.5 为标准筛选 MAP

与 SAP 差异代谢物，得到的结果如下图一所示，在正离子模式下，筛选出 41 种差异代谢物，在负离子模式下，筛选出 30 种差异代谢物。

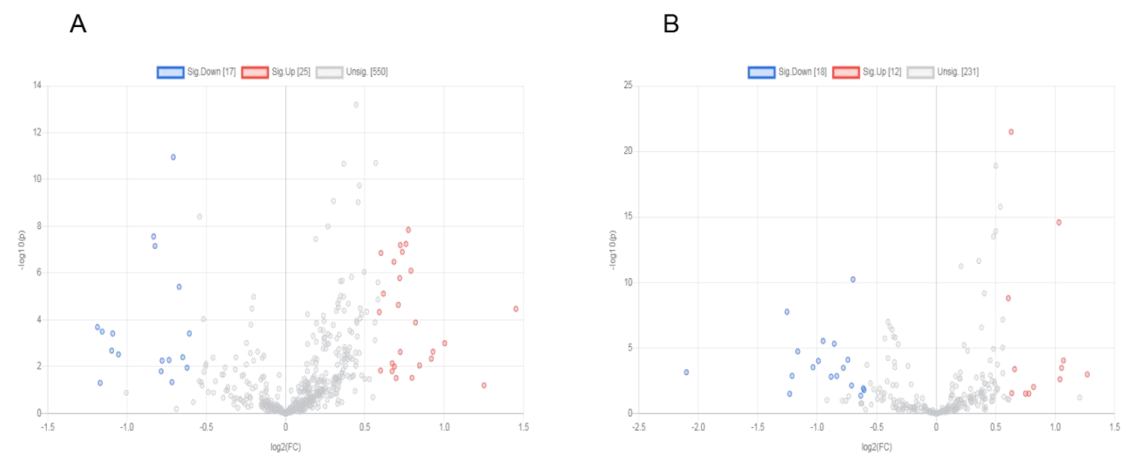


图 1 A、B：分别为 MAP 与 SAP 在正负离子下的火山图

2.3 多变量统计分析

利用主成分分析方法对两组之间血清样本的代谢物轮廓进行分析。结果下图二所示，在正、负离子模式下，两组之间血清样本的组内差异比较小，且组间差异较显著，说明代谢物信息特征能够区分正常人和 PDAC 患者血清样本，即两组间的代谢轮廓存在明显差异。利用 PLS-DA 方法对两组之间的血清标本的代谢物轮廓进行分析，结果显示下图 2 所示，正、负离子模式下，二者之间的代谢组学的组间存在显著差异。对构建好的模型再进行 K 折交互验证以评价模型拟合效果，以 R2 评价模型的解释度，Q2 评价模型的预测值 ，正离子模式下，R2、Q2 分别为:0.949、0.745；负离子模式下，R2、Q2 分别为：0.967、0.795，R2、Q2 均大于 0.5，说明模型拟合效果好，再对模型进行 100 次置换检验，得到 P 值，P 值均小于 0.1，提示不存在过拟合的情况。

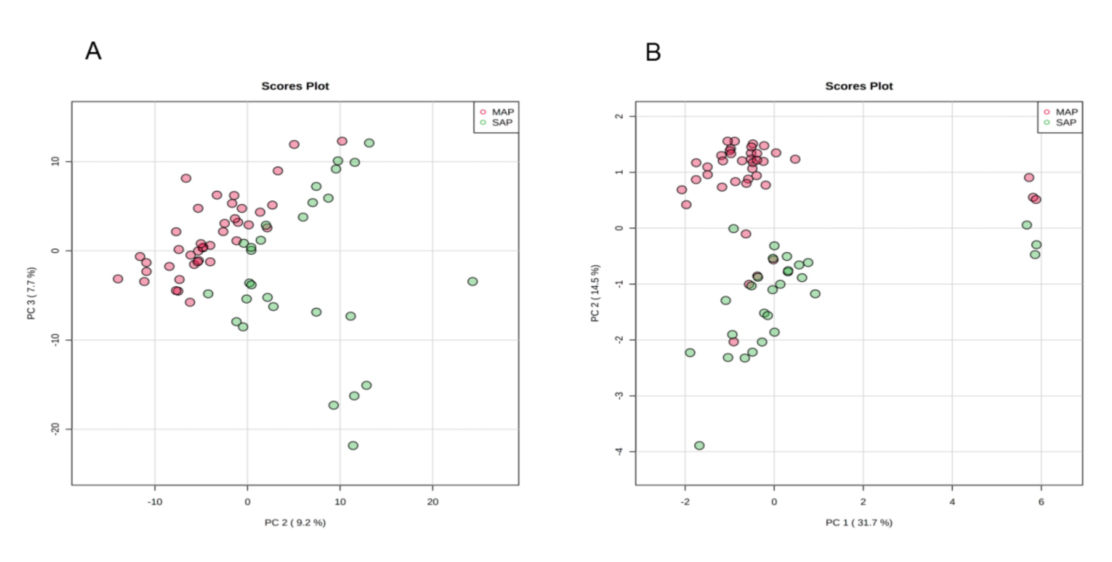


图 2　A、B 为 PCA 模式下轻 MAP 与 SAP 正负离子下的代谢物轮廓图

在成功的构建了正、负离子下正常人与 PDAC 患者的血清标本的模型下，进一步根据差异权重贡献值（VIP 值）来筛选潜在的差异性代谢物，以 VIP>1.0 的条件下，在正离子模式下，筛选出差异代谢物 32 种，在负离子模式下，筛选出差异代谢物 19 种。

对 MAP 与 SAP 血清代谢组学数据进行聚类分析，从而更加直观体现出血清差异代谢物的聚类程度。结果如下图 3 所示，可见在正、离子模式下，两组之间患者血清代谢物均呈现出较为明显的聚类。

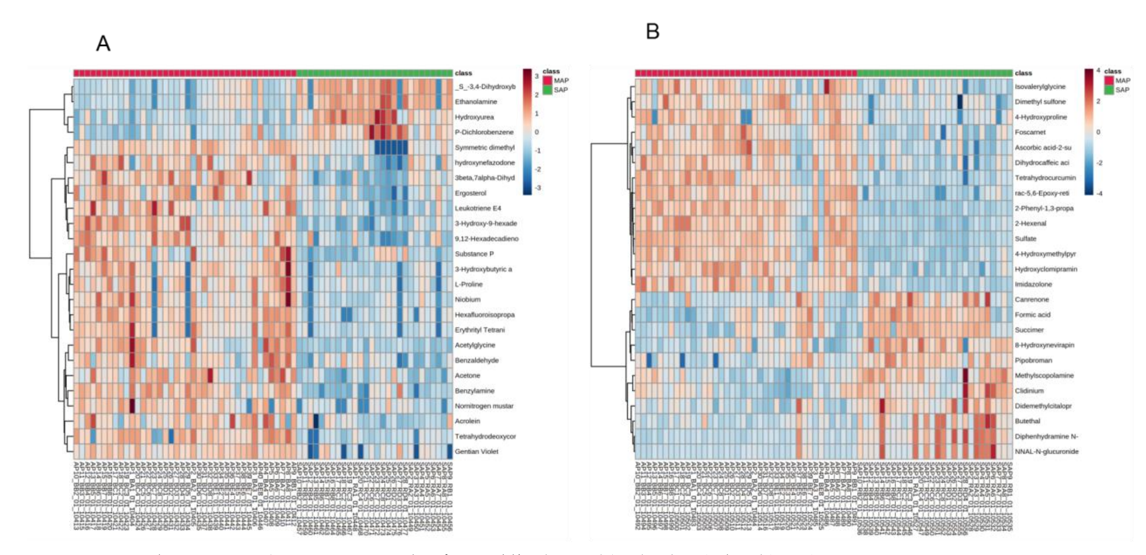


图 3　A、B 为 MAP 与 SAP 正负离子模式下的聚类分析热图

2.4 差异代谢物以及代谢通路分析结果

2.4.1 MAP 与 SAP 患者血清代谢物分析结果

正离子模式下 31 种差异代谢物，其中升高的有 18 种：2,5-二甲基呋喃、龙胆紫、3-亚磺基丙氨酸、肾上腺素乙醇酰胺、2-吡咯烷酮、P 物质、对乙酰氨基酚、LysoPC_20:1_11Z_、去氮芥、氯乙胺、四氢脱氧皮质酮、赤藓醇四硝酸酯、3-羟基丁酸、六氟异丙醇、铌、N-乙酰鸟氨酸、赖氨酸、脱氧胆酸；降低的有 14 种：原黄素、葡萄糖 6-磷酸、8-羟基韦拉平葡萄糖醛酸、二氨基庚二酸、S-3,4-二羟基丁酸、乙醇胺、葡萄糖基半乳糖基羟赖氨酸、焦磷酸法呢酯、3-甲基-2-氧代戊酸、3-羟基苯甲酸、5-氟尿苷、壬酸、磺胺乙酰胺。

负离子模式下 19 种差异代谢物，其中升高的有 7 种：膦甲酸、2-苯基-1,3-丙二醇单氨基甲酸酯、甜菜碱、rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡糖苷酸、乙酰胆甾醇葡萄糖醛酸苷、3-甲基-2-氧代戊酸、4-乙烯基苯酚硫酸盐；降低的有 12 种：、

NNAL-N-葡糖苷酸、根皮素 2_-O-葡糖苷酸、七氟烷、马拉硫磷二羧酸、坎利酮、2-氧精氨酸、三氟乙酸、苯海拉明 N-葡萄糖醛酸、O-去甲基曲马多葡糖苷酸、4_-O-methyl-_-_-epicatechin-7-O-beta-glucuronide、DG_18:1_11Z_20:5_5Z,8Z,11Z,14Z,17Z_0:0、4_-O-methyl-_-_-epicatechin-3_-O-beta-glucuronide。

利用 MetaboAnalyst 5.0 对在正、负离子模式下筛选出的显著差异性代谢物进行代谢通路分析。依据 KEGG 数据库，匹配到了 19 条代谢通路，再以-log(p)＞0.5 且 Pathway impact 值＞0.05 筛选出 6 条代谢通路，分别为：牛磺酸和亚牛磺酸代谢（Taurine and hypotaurine metabolism），赖氨酸降解（Lysine degradation），淀粉和蔗糖代谢（Starch and sucrose metabolism），甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢（Glycine, serine and threonine metabolism），萜类骨架生物合成（Terpenoid backbone biosynthesis）。

表 2 筛选出的通路及其相关信息列表

相关代谢通路	-log(p)	Impact	相关差异代谢物
牛磺酸和亚牛磺酸代谢	5.118	0.285	3-亚磺基丙氨酸
赖氨酸降解	3.886	0.151	赖氨酸
淀粉和蔗糖代谢	3.502	0.138	6-磷酸葡萄糖
甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	3.381	0.051	甜菜碱
萜类骨架生物合成	2.256	0.183	焦磷酸法呢酯

将筛选出来的 50 种差异代谢物进行分析，筛选出其中 AUC>0.9 的差异代谢物，如下图 4 所示。

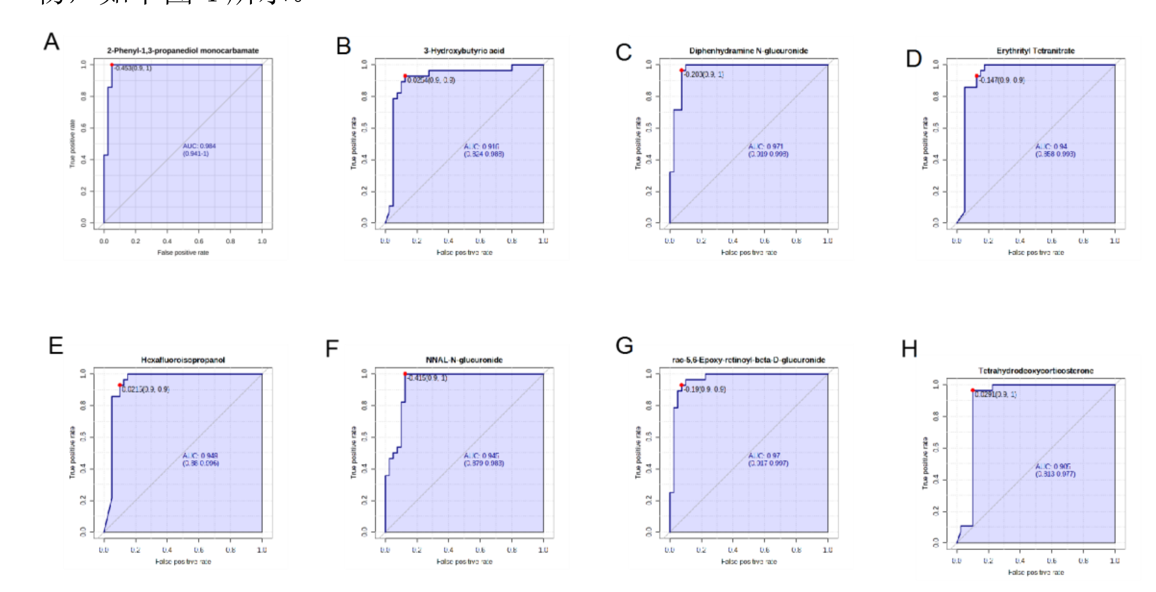


图 4 A、B、C、D、E、F、G、H 分别代表 2-苯基-1,3-丙二醇单氨基甲酸酯、3-羟基丁酸、苯海拉明 N-葡萄糖醛酸、赤藓醇四硝酸酯、六氟异丙醇、NNAL-N-葡糖苷酸、rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡萄糖醛酸、四氢脱氧皮质酮的 ROC 曲线图，图中横坐标代表灵敏度，纵坐标代表特异性

表 3 筛选出的差异代谢物 ROC 诊断表

差异代谢物	AUC	灵敏度	特异性	阳性似然比	阴性似然比
2-Phenyl-1,3-propanediol mono carbamate	0.982	96.4%	95%	19.28	0.041
Diphenhydramine N-glucuronide	0.968	96.4%	92.5%	12.86	0.038
rac-5,6-Epoxy-retinoyl-beta -D-glucuronide	0.967	92.8%	92.5%	12.38	0.077
Hexafluoroisopropanol	0.945	92.8%	90%	9.29	0.079
NNAL-N-glucuronide	0.942	96.4%	87.%5	7.71	0.041
Erythrityl Tetranitrate	0.938	92.8%	87.5%	7.42	0.082
3-Hydroxybutyric acid	0.912	92.9%	87.5%	7.43	0.082
Tetrahydrodeoxycorticosterone	0.904	96.4%	90%	9.64	0.039

3 讨论

本文基于 LC-MS 平台，对轻、重症急性胰腺炎差异的血清代谢组学研究，发现了 50 种差异代谢物，6 条代谢通路，其中 8 种差异代谢物具有较高的诊断效能，在重症胰腺炎患者中表达升高的有：2-苯基-1,3-丙二醇单氨基甲酸酯、rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡萄糖醛酸、六氟异丙醇、赤藓醇四硝酸酯、3-羟基丁酸、四氢脱氧皮质酮，表达下调的有:苯海拉明 N-葡萄糖醛酸、NNAL-N-葡萄糖醛酸。

徐洪明[9]等人采用超高效液相色谱-高分辨质谱分析平台对轻症急性胰腺炎患者与正常人血清差异代谢物进行分析，筛选出了 12 种差异代谢物，其中，辛酰胆碱的诊断效果最好，而本研究中关于 MAP 与 SAP 的差异代谢物中没有发现胆

碱类的相关代谢物，胆碱类的代谢物可能不是一个很好的鉴定 MAP 与 SAP 的差异代谢物。也有研究通过气相色谱-质谱（GC-MS）和随机森林算法的代谢组学方法，寻找胆汁性急性胰腺炎（BAP）、高脂血症性急性胰腺炎（HLAP）和酒精性急性胰腺炎(AAP)的差异代谢物[10]，与本研究所得结果相比，在 AAP 的差异代谢通路中也存在甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路的异常，因此，过量饮酒可能通过这一条代谢通路从而导致急性胰腺炎进一步向重症化的转变。也有研究通过 GC-MS 分析 AP 患者与健康体检者体内代谢产物的变化，发现 3-羟基丁酸、磷酸、甘油、柠檬酸、D-半乳糖、D-甘露糖、D-葡萄糖、十六酸和 5-羟色胺等可以帮助临床诊断 AP 的潜在生物标记物[11]，而本研究发现，3-羟基丁酸在重症急性胰腺炎患者中的表达明显升高，重症急性胰腺炎患者会导致组织和器官的进一步损伤甚至出现器官衰竭，对于胰腺腺泡细胞来说，这种炎症反应会损伤线粒体的功能，使 ATP 的产生减少，导致更多的乙酰辅酶 A 转化为酮体（乙酰乙酸、3-羟基丁酸和丙酮），从而使 SAP 患者中 3-羟基丁酸水平升高[12]。

血清钙离子的降低通常被认为与胰腺的坏死有关，持续的低钙将导致患者出现多器官功能的衰竭[13]。目前关于钙离子在急性胰腺炎中的发病机制的研究有很多，细胞内钙离子的超载和线粒体损伤是影响腺泡和导管细胞功能的疾病发展的关键致病步骤，细胞内高浓度的钙离子能够导致胰腺细胞 ATP 产生障碍，使胰腺细胞发生大量的坏死，胰腺细胞的坏死将进一步导致胰蛋白酶的释放，最终引起大范围的胰腺炎症[14]。有研究发现[15]，单氨基甲酸酯能够调控细胞内钙离子浓度，通过阻断神经元中的 T 型钙通道，防止细胞内钙离子的过度聚集，从而起到保护神经的作用。而关于其在胰腺细胞中的研究目前暂未阐述，在本研究中，在 SAP 患者中，2-苯基-1,3-丙二醇单氨基甲酸酯的表达明显升高，其是否也是通过该机制导致细胞内钙离子的过度聚集从而导致胰腺的炎症尚需进一步的研究。

葡萄糖醛酸是葡萄糖的 C-6 羟基被氧化为羧基形成的糖醛酸,葡萄糖醛酸通过葡萄糖醛酸化反应生成高度亲水性的产物葡萄糖醛酸苷，生成的葡萄糖醛酸苷通过胆汁或尿液排出[16]。在人体内，多种内源性物质（如胆红素）、药物和其他外源性物质（如环境毒素），通过与葡萄糖醛酸结合形成亲水性的物质从而更好的从体内排除[17]。因此，葡萄糖醛酸化反应是人类一种重要的防御机制，可

以避免体内出现有毒物质的过段堆积。在本实验中，轻症与重症急性胰腺炎患者的差异代谢物中，rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡萄糖醛酸、苯海拉明 N-葡萄糖醛酸、NNAL-N-葡萄糖醛酸三种差异代谢物具有较好的诊断效能，其中，rac-5,6-环氧-视黄酰-β-D-葡萄糖醛酸在重症急性胰腺炎患者体内水平升高。亚硝胺 4（甲基亚硝胺）-1-（3-吡啶基）丁酮（NNK）是烟草中特有的导致肺癌的致病因子，在人体中，NNK 可通过葡萄糖醛酸化反应生成 NNAL-N-葡萄糖醛酸从而通过尿液排出[18]，一旦这个代谢途径受到抑制，人体患有肺癌的风险率将增大。有研究表明[19]，细胞色素 P450 2A6（CYP2A6）能够催化 NNK 的代谢，从而降低肺癌的发病率，也有研究表明，胰腺癌的发病也与 CYP2A6 有关[20]。而在重症急性胰腺炎患者中，NNAL-N-葡萄糖醛酸表达下降，可能导致体内有毒物质如 NNK 的代谢障碍，有毒物质在体内大量堆积，从而进一步损伤患者的肺和胰腺组织，使重症患者出现更严重的临床症状，以后有望通过对此机制的研究，为临床早期诊断、治疗胰腺炎提供新的思路和方法。

综上所述，本研究通过 LC-MS 的方法，对轻症、重症急性胰腺炎患者的血清差异代谢物研究，发现了 50 种差异代谢物，6 条代谢通路，其中 8 种差异代谢物具有较好的诊断效能，可能是二者之间较好的潜在生物标志物，后续可通过进一步的研究，为急性胰腺炎的诊断和治疗提供新的思路。

【参考文献】

[1] PETROV M S, YADAV D. Global epidemiology and holistic prevention of pancreatitis [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2018, 16(3): 175-84.

[2] ZHENG Z, DING Y-X, QU Y-X, et al. A narrative review of acute pancreatitis and its diagnosis, pathogenetic mechanism, and management [J]. Annals of Translational Medicine, 2021, 9(1): 69-.

[3] BANKS P A, BOLLEN T L, DERVENIS C, et al. Classification of acute pancreatitis—2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus [J]. Gut, 2013, 62(1): 102-11.

[4] YE S, SI C, DENG J, et al. Understanding the Effects of Metabolites on the Gut Microbiome and Severe Acute Pancreatitis [J]. BioMed Research International, 2021, 2021: 1-10.

[5] JIN Z, XU L, WANG X, et al. Risk Factors for Worsening of Acute Pancreatitis in Patients Admitted with Mild Acute Pancreatitis [J]. Medical Science Monitor, 2017, 23: 1026-32.

[6] BOXHOORN L, VOERMANS R P, BOUWENSE S A, et al. Acute pancreatitis [J]. The Lancet, 2020, 396(10252): 726-34.

[7] 李非, 曹锋. 中国急性胰腺炎诊治指南(2021) [J]. 中国实用外科杂志, 2021, 41(07): 739-46.

[8] RINSCHEN M M, IVANISEVIC J, GIERA M, et al. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2019, 20(6): 353-67.

[9] XU H, ZHANG L, KANG H, et al. Serum Metabonomics of Mild Acute Pancreatitis [J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2016, 30(6): 990-8.

[10] HUANG J-H, HE D, CHEN L, et al. GC-MS based metabolomics strategy to distinguish three types of acute pancreatitis [J]. Pancreatology, 2019, 19(5): 630-7.

[11] XIAO H, HUANG J-H, ZHANG X-W, et al. Identification of potential diagnostic biomarkers of acute pancreatitis by serum metabolomic profiles [J]. Pancreatology, 2017, 17(4): 543-9.

[12] MAL TH J, RAKONCZAY Z, VENGLOVECZ V, et al. Central role of mitochondrial injury in the pathogenesis of acute pancreatitis [J]. Acta Physiologica, 2013, 207(2): 226-35.

[13] 王先令, 朱丽叶, 陶坤林, et al. 红细胞分布宽度/血清钙离子对急性胰腺炎严重程度的早期诊断价值 [J]. 实用医学杂志, 2020, 36(05): 650-4.

[14] MAL TH J, HEGYI P. Ca 2+ toxicity and mitochondrial damage in acute pancreatitis: translational overview [J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2016, 371(1700): 20150425.

[15] KIM D Y, ZHANG F-X, NAKANISHI S T, et al. Carisbamate blockade of T-type voltage-gated calcium channels [J]. Epilepsia, 2017, 58(4): 617-26.

[16] YANG G, GE S, SINGH R, et al. Glucuronidation: driving factors and their impact on glucuronide disposition [J]. Drug Metabolism Reviews, 2017, 49(2): 105-38.

[17] ČVOROVIĆ J, PASSAMONTI S. Membrane Transporters for Bilirubin and Its Conjugates: A Systematic Review [J]. Frontiers in Pharmacology, 2017, 8.

[18] MURPHY S E, VON WEYMARN L B, PARENTEAU M, et al. Influence of UGT2B10 Genotype on Urinary Excretion of 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol-N-glucuronide by African American Smokers [J]. Chemical Research in Toxicology, 2018, 31(3): 168-75.

[19] YUAN J-M, NELSON H H, CARMELLA S G, et al. CYP2A6 genetic polymorphisms and biomarkers of tobacco smoke constituents in relation to risk of lung cancer in the Singapore Chinese Health Study [J]. Carcinogenesis, 2017, 38(4): 411-8.

[20] ROEMER K, HOCEVAR B A, KAMENDULIS L M, et al. Contribution of Environment and Genetics to Pancreatic Cancer Susceptibility [J]. PloS one, 2014, 9(3): e90052.